

Thesis MEMOR

1964

34

**Untersuchungen der Heparintoleranz
in vitro bei Diabetikern, Patienten mit
peripheren arteriellen Obliterationen
und gesunden Vergleichspersonen**

Gertrud Fritze, geb. Polednik

Digitized by the Internet Archive
in 2026

**Untersuchungen der Heparintoleranz
in vitro bei Diabetikern, Patienten mit
peripheren arteriellen Obliterationen
und gesunden Vergleichspersonen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Gertrud Fritze, geb. Polednik
aus Komotau/Sudetengau

München 1964

Untersuchungen der Heparintoleranz
in vitro bei Diabetikern, Patienten mit
peripheren arteriellen Obstruktionen

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:

Prof. Dr. W. SEITZ

Dekan:

Prof. Dr. R. BACHMANN

Tag der mündlichen Prüfung: 20.2.1964

Die Abhandlung der Dissertation in der gesamten Medizin
vorlegt und
einen hohen akademischen Rang
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Gertfried Ertl, geb. Felsch
aus Komorn/Budapest

München 1964

MEINEN ELTERN GEWIDMET

Einleitung	1
Erstes Buch	2
Zweites Buch	3
Drittes Buch	4
Viertes Buch	5
Fünftes Buch	6
Sechstes Buch	7
Siebentes Buch	8
Achtes Buch	9
Neuntes Buch	10
Zehntes Buch	11
Elftes Buch	12
Zwölftes Buch	13
Dreizehntes Buch	14
Vierzehntes Buch	15
Fünfzehntes Buch	16
Sechzehntes Buch	17
Siebzehntes Buch	18
Achzehntes Buch	19
Neunzehntes Buch	20
Zwanzigstes Buch	21
Einundzwanzigstes Buch	22
Zweiundzwanzigstes Buch	23
Dreiundzwanzigstes Buch	24
Vierundzwanzigstes Buch	25
Fünfundzwanzigstes Buch	26
Sechsfundzwanzigstes Buch	27
Siebsfundzwanzigstes Buch	28
Achtundzwanzigstes Buch	29
Neunundzwanzigstes Buch	30
Trübsal	31

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung und Problemstellung	7
Arteriosklerose	8
Ätiologie der Arteriosklerose	9
Arteriosklerose und Blutgerinnung	10
Diabetes mellitus	12
Diabetes und Arteriosklerose	12
Heparin:	14
Chemie	14
Vorkommen	14
Seine gerinnungshemmende Wirkung	15
Heparin und Blutzucker	15
Eigene Untersuchungen:	17
Heparintoleranztest in vitro	17
Reagenzien	18
Verwendete Methode	18
Ergebnisse	19
Diskussion der Ergebnisse	34
Zusammenfassung	37
Literaturverzeichnis	38
Lebenslauf	44

EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Es ist schon seitlangem bekannt, daß Gefäßkrankheiten beim Zuckerkranken wesentlich häufiger auftreten als beim Gesunden. Heute, wo das Koma als Todesursache des Diabetikers durch die Einführung des Insulins in die Behandlung sehr viel seltener geworden ist, stellen diese Gefäßkrankheiten die gefürchtetste Komplikation des Diabetes dar und bestimmen weitgehend seine Prognose.

Da gerade in letzter Zeit wiederholt auf die Beziehungen zwischen Arteriosklerose und Blutgerinnung aufmerksam gemacht wurde, erschien es uns interessant, auch das Blut des Diabetikers in dieser Hinsicht zu untersuchen.

Schon im Jahre 1852 gelangte Rokitsansky (37) zu der Auffassung, daß die Bildung wandständiger Thromben eine wichtige Teilursache der atheromatösen Gefäßwandveränderungen darstelle. Seine Vorstellungen wurden später von anderen wieder aufgenommen und weiter untersucht (12, 2). So wies vor allem Duguid auf das relativ häufige Vorkommen einer arteriellen Thrombose hin. Durch Gefäßendotheldefekte kommt es zu Benetzbarkeitsänderungen und folgenden thrombotischen Auflagerungen, die einen Anreiz zur Proliferation der Gefäßinnenhaut geben. Der Thrombus wird von Endothel bedeckt, dadurch in die Intima miteinbezogen, in der Folge organisiert und als Ergebnis bildet sich eine fibröse Verdickung der Gefäßwand. Für die Entstehung einer Thrombose gilt aber neben einer Gefäßwandläsion und einer Strömungsverlangsamung des Blutes die Steigerung der Gerinnungsfähigkeit (Virchow's klassische Trias) als verantwortlicher Faktor. Tatsächlich konnte auch bei obliterierenden Gefäßleiden eine gesteigerte Gerinnungsaktivität des Blutes festgestellt werden. Im einzelnen wird von einer Erhöhung des Faktors V (32, 46), der Prothrombinwerte nach Quick und des Faktors VII (42), der Thromboplastin- und Fibrinogenwerte, hingegen einer Verminderung der Heparinaktivität berichtet (1, 46). Somit scheint es wahrscheinlich, daß zwischen der Arteriosklerose und den Gerinnungsverhältnissen des Blutes Beziehungen bestehen, die über eine endovasale Thrombose zu deformierenden Wandprozessen führen.

Nach Überprüfung der Literatur, die nichts über die Heparintoleranz bei Diabetikern berichtet, machten wir es uns zur Aufgabe, zu untersuchen, ob die bei Arteriosklerotikern nachgewiesene Erhöhung der Heparintoleranz in vitro auch bei Diabetikern (ohne klinisch nachweisbare Obliterationen) zu finden ist, die, wie wir eben erwähnt haben, stark zu Gefäßprozessen neigen.

Als Versuchspersonen dienten Diabetiker, die klinisch noch keine obliterierenden Gefäßkomplikationen aufwiesen, Patienten mit arterio- und oszillographisch

festgestellten Obliterationen ohne Diabetes und "Gesunde", d. h. Personen ohne nachweisbaren pathologischen Organbefund.

Dabei wurden die 3 Personenkollektive, zusätzlich noch altersmäßig gegliedert, hinsichtlich ihrer Thrombinzeitwerte nach Heparinapplikation in vitro miteinander verglichen.

ARTERIOSKLEROSE

Die Arteriosklerose ist eine der wichtigsten und folgenschwersten Krankheiten des arteriellen Systems. Morphologische, biochemische, experimentelle und klinische Untersuchungen haben zu der Ansicht geführt, daß die Arteriosklerose heute nicht mehr als schicksalhaft ablaufender Abnützungs- und Alterungsvorgang der Arterien, sondern als ein Prozess angesehen werden muß, der schon im jugentlichen Alter einsetzen kann und von zahlreichen, auch exogen beeinflussbaren Stoffwechselfaktoren abhängt (38).

Es handelt sich bei der Arteriosklerose um pathologische Veränderungen, die die Intima der Arterien erfassen und durch herdförmige Verdickungen der Gefäßinnenhaut charakterisiert sind. Die Läsionen zeigen häufig eine fast ausschließlich fibröse Zusammensetzung mit nur wenig lipidem Material, dann aber auch wieder manchmal sehr starke Fettanhäufungen.

Nach der alten "Imbibitionstheorie" von Virchow entsteht eine Arteriosklerose durch Infiltration und Ausfällung von Plasmabestandteilen im Gebiet der Intima und Subintima. Nach Büchner (5) beginnt die arteriosklerotische Herdbildung nicht mit einer Lipoidose, sondern mit einem akuten eiweißhaltigen Ödem der Intima. Es kommt zur Auflockerung und Verquellung. Unter zunehmendem Wasserverlust kondensiert sich allmählich das zunächst in dünner Lösung vorhandene Eiweiß zu homogenen, zellfreien Ablagerungen, d. h. zu Hyalin. Diese Abscheidung von Hyalin im Gewebe führt dann häufig zu sekundärer Faserneubildung. Das Gewebe verhärtet sich, wir sprechen von Sklerose. Häufig ist jedoch auch die Weiterentwicklung des Hyalinherdes eine andere. Mit zunehmendem Wasserverlust werden immer mehr sudanfärbbare Ablagerungen sichtbar. Das Auftreten von Cholesterinestern oder der feintropfigen Speicherung der Lipide in den Mesenchymzellen der Herdumgebung wird nicht als Neueinlagerung von Lipoiden, sondern als Folge der Entmischung des schon in der Ödemflüssigkeit vorhandenen Eiweiß- und Lipoidkomplexes angesehen; das ist die sogenannte Lipoidphanerose. Im Bereich der arteriosklerotischen Lipoidose kann es andererseits zur Ausfällung von Kalzium-Karbonat und Kalzium-Phosphat

kommen, d. h. zur Kalzinose. Die gesamte Gefäßwand wird starr und unelastisch, die Arterienwand wird dicker, das Lumen häufig weiter, besonders bei Arterien des elastischen Typs. Das Gefäß verläuft geschlängelt.

ÄTIOLOGIE DER ARTERIOSKLEROSE

Bis heute hat die Ursachenforschung der Arteriosklerose noch zu keinem eindeutigen Ergebnis geführt. Anscheinend spielen eine Reihe von Faktoren bei der Entstehung dieser Krankheit eine Rolle. So muß die Arteriosklerose als ein poly-ätiologisches Leiden aufgefaßt werden, das durch Alter, Geschlecht, Konstitution, chronische "stress Situationen", Nikotin, körperliche Inaktivität usw. begünstigt wird. Vor allem sind auch hämodynamische und mechanische Faktoren von großer Bedeutung. Beispiele hierfür sind die Hypertonie und die Prädisposition mechanisch besonders beanspruchter Abschnitte, z. B. an Gefäßverzweigungen der Coronararterien.

Büchner (6) betont die Bedeutung der chronischen Hypertonie für die Entwicklung der Arteriosklerose. Infolge Hyperplasie der Gefäßwandstrukturen wird die Grenzschichtdicke, auf deren Bedeutung die Untersuchungen von Linzbach aufmerksam gemacht haben, d. h. die für die normale Durchflutung optimale Dicke der Arterien, überschritten; es kommt zu Stoffwechselstörungen an der Gefäßwand und zur Ausbildung von Gefäßschäden.

Nach Schönbach (39) geht der Arteriosklerose mitunter eine durch Nervenschädigungen verursachte Permeabilitätserhöhung der Gefäßwand voraus, durch die es zum Intimaödem und zur Ablagerung von Eiweißstoffen kommt.

Hiermit sind nur zwei der vielen Hypothesen über die Arterioskleroseentstehung angedeutet. Es steht aber noch nicht einmal fest, ob Veränderungen der Gefäßwand oder des Gefäßinhaltes am Anfang der Arteriosklerose des Menschen stehen.

Eine große Bedeutung in der Pathogenese der Arteriosklerose schreibt man auch den biochemischen Veränderungen des Blutes zu. Übereinstimmend zeigten histochemische Untersuchungen von arteriosklerotischen Gefäßen stets einen erhöhten Gehalt an Cholesterin, Neutralfetten, Phospholipoiden usw. gegenüber gesunden Gefäßen. Im Serum findet sich oft eine Hypercholesterinämie, eine Erhöhung des Gehaltes an Serumlipoproteiden von niedrigem spezifischen Gewicht und eine Zunahme des β/α - Quotienten (27). Diese Veränderungen der Serumlipide sind zweifellos das zwar nicht regelmäßig, jedoch am häufigsten gefundene und hervorstechendste Symptom bei der Arteriosklerose. Ebenso

ist bekannt, daß Krankheiten, die mit einem krankhaft gesteigerten Cholesterin- und Fettgehalt einhergehen, wie z. B. der Diabetes oder das Myxödem, besonders stark zu Arteriosklerose neigen. Untersuchungen (9) ergaben, daß die Lipoproteidwerte bei der Arteriosklerose und beim Diabetes ohne vasculäre Schäden fast völlig übereinstimmen. Nach Gofman und seinen Mitarbeitern (14) ist weniger das Plasmacholesterin selbst von Bedeutung als vielmehr die Existenz und Menge einer bestimmten Gruppe von Lipoproteiden, die Cholesterin enthalten.

Die Häufigkeit, mit der Durchblutungsstörungen beim Diabetes auftreten, weist auf die mögliche pathogenetische Bedeutung der Kohlenhydrate hin. In letzter Zeit wurde die Vermehrung der Muco- und Glucopolysaccharide im Blut von Diabetikern festgestellt und mit der Pathogenese der Gefäßschäden in Zusammenhang gebracht, vor allem seit der Aufbau der Gefäßgrundsubstanz aus Mucopolysacchariden erkannt und deren Vermehrung bei sklerosierenden Prozessen festgestellt wurde (18). Interessant ist auch die Beobachtung, daß die Hyperglykämie die intimale Plasmainsudation und die Ausfällung der Lipoproteine sowie die intravasalen Lipid- und Cholesterinstoffwechselstörungen begünstigt (23).

ARTERIOSKLEROSE UND BLUTGERINNUNG

In den letzten 10 Jahren gewann die Untersuchung eines möglichen Zusammenhangs zwischen Blutgerinnung und Arteriosklerose zunehmend an Interesse. Bereits vor mehr als 100 Jahren hatte Rokitsky die Ansicht vertreten, daß die arteriosklerotischen Wandveränderungen mit starken Ablagerungen an der Intima beginnen können, die aus dem Blut selbst hervorgehen und meist aus Fibrin bestehen. Aber seine Beobachtungen gerieten in Vergessenheit, und man befaßte sich fast ausschließlich mit den Veränderungen der Blutfette.

1943 macht Hahn (17) die Entdeckung, daß Heparin lipämisches Plasma klärt, was durch nachfolgende Untersuchungen auch bestätigt wurde. Andererseits wird von einer erfolgreichen Heparintherapie der Arteriosklerose berichtet, wonach eine erhebliche Besserung der arteriosklerotischen Beschwerden eintreten soll (22, 43). Da die antikoagulierende Wirkung des Heparins bekannt war, tauchte die Frage auf, ob diese klinisch beobachteten Besserungen nur durch die biochemischen Veränderungen der Serumlipide durch Heparin zu erklären seien oder ob darüber hinaus Zusammenhänge zwischen erhöhter Gerinnbarkeit des Blutes und Arteriosklerose bestehen (16). Untersuchungen der Gerinnungsfaktoren bei obliterierender Arteriopathie zeigten eine signifikante Erhöhung des Faktors V (32, 46), des Faktors VII und des Prothrombins nach Quick (42). Gefunden wurde auch ein vermindertes Protaminbindungsvermögen als Zeichen einer Hypoheparinämie

oder eine Verminderung heparinoider Substanzen (15, 34). Es ist daher möglich, daß durch einen Mangel an Heparin die pathologische Vermehrung der Lipoproteide bei der Arteriosklerose hervorgerufen wird. Dafür spricht auch die Tatsache, daß die Wirkung von appliziertem Heparin auf die Senkung der alimentären Lipämie bei Arteriosklerotikern geringer ist als bei Gesunden (8). Durch die herabgesetzte Aktivität des Klärsystems kann die Ausfällung von Fettpartikeln und Lipoproteiden nicht verhindert werden; die Entwicklung der lipoiden Degenerationsvorgänge in der Gefäßwand wird damit gefördert. Auch fand man bei Patienten mit Arteriosklerose die Heparintoleranz gegenüber gesunden Vergleichspersonen erhöht (45, 46), ebenso den Fibrinogenspiegel (46). Mustard (31) stellte bei Arteriosklerose eine gesteigerte Gerinnungsaktivität fest. Interessant ist auch die Beobachtung, daß Coronarthromosen nicht selten nach einer fettreichen Mahlzeit auftreten. Tatsächlich ließ sich in zahlreichen Untersuchungen eine Verstärkung und Beschleunigung der Blutgerinnung durch die Nahrungsfette feststellen (24, 26, 33). Bei einigen Untersuchern ergab sich sogar zwischen dem Grad der Lipämie und der Gerinnungsbeschleunigung eine direkte Beziehung (42).

Alle diese Beobachtungen sprechen dafür, daß zwischen erhöhtem Lipoidgehalt des Blutes und der Arteriosklerose Beziehungen bestehen, die eventuell im Blutgerinnungssystem zu suchen sind (Heparin bzw. heparinoide Substanzen). Damit fände auch die Thrombose-Ätiologie von Duguid (12) eine Stütze. Dieser Pathologe vertrat als erster nach Rokitsansky die Meinung, daß die arteriosklerotischen Herde aus umgewandelten Wandthrombosen hervorgehen. Ein solcher Wandthrombus wird allmählich von Endothel überzogen und mit der Zeit ein Bestandteil der Arterienwand. Schließlich werden die Fibrineinlagerungen in der Intima mehr oder weniger organisiert. Später kommt es dann zur Verfettung mit Erweichung, Ulceration und Kalkeinlagerung. Das übliche Bild der Arteriosklerose ist damit erreicht. Nach Duguid sind kleinere und größere Wandthromben in Arterien verschiedenen Kalibers sehr häufig. Dünnere und dickere Fibrinschichten lagern sich primär auf die Intima, werden von einem Endothelüberzug bedeckt, können immer wieder rezidivieren und die Intima zunehmend verdicken.

Nach Astrup (3) kommt es durch Hemmung der Fibrinolyse (z.B. infolge einer Lipämie) zur Bildung von Gefäßwandthromben. "Wenn das fibrinolytische System reduziert ist, werden die muralen Fibrinablagerungen nicht schnell genug entfernt und es entstehen pathologische Bildungen." Auch er vermutet, daß die eigentlichen atheromatösen Veränderungen sekundäre Prozesse darstellen, die unter anderem der Einverleibung von Lipoidmassen in die Fibrinablagerungen ihr Entstehen verdanken. Bei Patienten mit obliterierender Angiopathie wurde eine signifikant verminderte Spontanfibrinolyse gefunden (47).

Damit tritt die Pathogenese der Arteriosklerose in den Bereich der Blutgerinnungsvorgänge. Nach heute vorliegenden Ergebnissen könnte man die Arteriosklerose auch als Folge eines chronischen Heparindefizits auffassen, da durch Heparin sowohl die Neigung zu Thrombosen als auch die Neigung zu einer Anhäufung von Lipoidablagerungen in der Intima verhindert werden können.

DIABETES MELLITUS

Der Diabetes mellitus ist eine häufige und in ihren Folgen schwere Erkrankung des Kohlenhydratstoffwechsels. Diese Krankheit ist nicht ausschließlich Folge einer ungenügenden Insulinproduktion. Sie kann ebenso auf einer Störung im Zusammenwirken vieler Hormone beruhen, die eine Hemmung der Glukoseverwertung nach sich zieht. Nach der Insulinempfindlichkeit unterscheiden wir zwei Formen; den juvenilen instabilen Insulin-Mangel-Diabetes und den stabilen Altersdiabetes. Dem diabetischen Organismus ist die Fähigkeit zur Fixation des Zuckers im Gewebe, d. h. zum Glykogenaufbau und zur Glykogenspeicherung mehr oder weniger verloren gegangen, die energetische Zuckerverwertung in der Peripherie ist gestört, der Blutzucker steigt an und ist über die Nierenschwelle von etwa 160 mg % erhöht. Als Folge wird Zucker im Urin ausgeschieden. Da die wichtigsten Energielieferanten, die Kohlenhydrate, ausfallen, wird vermehrt Fett verbrannt; daneben erfolgt durch gesteigerte Gluconeogenese vermehrter Eiweißabbau. Der erhöhte Fettabbau bei gleichzeitiger Verminderung der Glukoseverbrennung verursacht einen erhöhten Anfall von Ketonkörpern, d. h. eine Ketose und Acidose, der vermehrte Eiweißumsatz führt zu einer Erhöhung des Reststickstoffgehaltes im Blut und der N-Ausscheidung im Urin. So finden wir Hyperglykämie, Glucosurie, Acidose, Ketose und vermehrte Stickstoffausscheidung als wesentliche Merkmale eines Diabetes mellitus.

DIABETES UND ARTERIOSKLEROSE

Unbehandelt führt der Diabetes mellitus immer zu Komplikationen. Das Coma diabeticum ist dann die Endphase. Als im Jahre 1921 das Insulin von Banting und Best entdeckt wurde, glaubte man allgemein, daß die Frage der Behandlung der Zuckerkrankheit gelöst sei. Diese Erwartung erfüllte sich leider nicht. Es gelang zwar, die diabetischen Stoffwechselveränderungen zu normalisieren - das Coma und die Acidose können in der Regel beherrscht werden -, doch wurden die mit Insulin längere Zeit am Leben erhaltenen Kranken von einer neuen

Gefahr bedroht, von Gefäßveränderungen, die die Haupttodesursache der erwachsenen Diabetiker darstellen. Die klinische Beobachtung zeigt bei der überwiegenden Mehrzahl der Diabetiker kardiovaskuläre Erscheinungen in teils latenter, teils manifester Form. Diese diabetischen Gefäßveränderungen sind nicht einheitlich. Bei einem Teil der Fälle beobachtet man Arteriosklerose; es erkranken überwiegend die Arterien, vorzugsweise die Coronargefäße des Herzens und die Arterien der unteren Gliedmaßen. In einer anderen Gruppe dagegen werden vor allem die Kapillaren sowie die unmittelbar benachbarten Gefäßabschnitte, die Arteriolen, in erster Linie in der Retina, in den Nieren und in der Haut, vom Krankheitsprozess erfaßt. Diese letzteren Gefäßveränderungen sind anscheinend spezifisch und werden als *Angiopathia diabetica* bezeichnet. Ihre charakteristischen Merkmale sind in der Netzhaut des Auges die Mikroaneurysmen, in den Nieren die intercapilläre Glomerulosklerose, das Syndrom von Kimmelstiel und Wilson, und in der Haut die erhöhte Fragilität der Kapillaren. Die Coronarerkrankungen und okklusiven Gefäßleiden lassen sich nicht von denjenigen der Kohlenhydratstoffwechselgesunden unterscheiden, sind also wahrscheinlich diabetisch-unspezifisch (19). Doch gehen hier die Meinungen noch auseinander. Die Frage, ob es berechtigt ist, die *Angiopathia diabetica* als eigenes Krankheitsbild von der *Arteriosclerosis obliterans* abzugrenzen, ist nicht leicht zu beantworten, da das klinische und morphologische Bild beider Krankheiten übereinstimmt. Trotzdem treten Lundbaek (28), Hetényi (19), Dembowski (10), Randerath und Diezel (35) für die Sonderstellung und Spezifität der diabetischen Gefäßschäden ein. Während die von Bürger geprägte Bezeichnung "*Angiopathia diabetica specifica*" die Gesamtheit der Gefäßveränderungen bei der Zuckerkrankheit umfaßt, also sowohl die Arteriosklerose als auch die "*Capillaropathia diabetica universalis*", stellen nach Lundbaek (ebenso nach Dembowski) nur die diabetische Retinopathie und die Glomerulosklerose eine reine Form der diabetischen Angiopathie dar, während bei der Arteriosklerose eine Kombination von diabetischer Angiopathie mit altersentsprechender Gefäßkrankheit vorliegt. Lundbaek stützt sich im wesentlichen auf folgende statistische Befunde: arterielle Gefäßverschlüsse sind beim Diabetiker sehr viel häufiger als selbst bei fortgeschrittener Arteriosklerose. Die Zahl der diabetischen Arteriopathien steigt sowohl mit dem Lebensalter als auch mit der Dauer der Stoffwechselerkrankung. Die *Arteriopathia diabetica* kommt zwar auch häufiger bei Männern als bei Frauen vor, der Unterschied ist jedoch sehr viel geringer als bei der *Arteriosclerosis obliterans*. Außerdem besteht eine eindeutige statistische Beziehung zwischen Angiopathie und *Arteriopathia diabetica*.

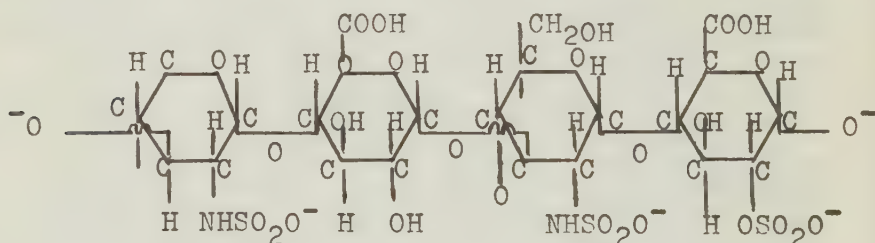
Die Auffassung Lundbaeks wird noch durch andere Untersuchungen unterstützt. Randerath (35) fand, daß die Gefäße der Diabetiker wesentlich größere Lipoid-

mengen enthalten als die von Gesunden und Arteriosklerotikern. Der Gesamtcholesteringehalt war gegenüber Gesunden auf das Dreifache gesteigert. Auf Grund dieser Befunde scheint die Abgrenzung der Arteriopathia diabetica von der Arteriosklerose gerechtfertigt.

HEPARIN

Chemie:

1916 stieß Mc Lean, während er unter Howell arbeitete, zufällig auf einen gerinnungshemmenden Stoff der Leber, der nach dem Fundort die Bezeichnung "Heparin" erhielt. Weitgehende Aufklärung des chemischen Aufbaus des Heparins gelang Jorpes und seinen Mitarbeitern (21). Zunächst hielt Jorpes Heparin für einen Polyschwefelsäureester des Chondroitins, später zeigte es sich aber, daß der Aminozucker nicht Galaktosamin, sondern Glucosamin ist. Es handelt sich also bei Heparin um einen Polyschwefelsäureester des Mukoitins. Nach heutiger Anschauung besitzt Heparin folgende Strukturformel:



Von den physikalisch-chemischen Eigenschaften des Heparins sind vor allem das Molekulargewicht von ungefähr 16000 und die außergewöhnlich starke Ladung hervorzuheben. Der Schwefelgehalt beträgt etwa 13 %, der Schwefelsäuregehalt bis zu 45 %. Damit besitzt Heparin offenbar die stärkste Ladung aller organischen Verbindungen.

Vorkommen:

Im Jahre 1877 entdeckte Ehrlich die Gewebsmastzellen und 1937 bewiesen Jorpes, Holmgren und Wilander die Heparinnatur der Mastzellengranula. Diese sind ebenso wie Heparin metachromatisch färbbar, d. h. sie haben die Eigenschaft, sich mit Toluidinblau rot zu färben. Die Metachromasie wurde als histochemischer Nachweis benutzt, um Aufschluß über den Heparin Gehalt ein-

zelner Gewebe zu erhalten. Dabei fand man, daß Unterschiede im Heparin-gehalt verschiedener Tierarten bestehen. Beim Menschen findet man Mastzellen besonders in den serösen Häuten aller parenchymatösen Organe, vor allem der Leber und Lunge, aber sie kommen auch im Corium der Haut, in Lymphknoten, im Magen-Darm-Kanal und in der Wand der Harnblase vor. Im lockeren Gewebe sind sie fast überall (41). Wegen ihrer typischen Lagerung um die Kapillaren und die kleinen Gefäße ohne Muskulatur sind sie fähig, ihren granulären Inhalt in die extrazelluläre Flüssigkeit oder direkt ins Blut zu entleeren. Die Heparinausschüttung in das Blut ist jedoch noch nicht eindeutig bewiesen. Die Mastzellen bilden offenbar mit den Zellen, die rund um die Kapillaren des Körpers verstreut sind, ein hormonales System. Nach der Ansicht vieler Autoren sind sie als einzellige Sekretionsorgane aufzufassen. Im Laufe des Lebens erfolgt eine stetige und beträchtliche Abnahme der Mastzellen, die der Abnahme der Kapillaren mit zunehmendem Alter entspricht. Bei Frauen ist die Zahl der Mastzellen bis zum 40. Lebensjahr höher als bei Männern. Später kommt es zu einer wesentlichen Verschiebung der Verhältnisse, d. h. zu einer auffallenden Herabsetzung der Mastzellen bei den Frauen (36).

Die gerinnungshemmende Wirkung des Heparins:

Das Heparin wirkt als Antiprothrombin, Antithrombokinasen und vor allem als Antithrombin. Seine Wirkung ist von der Anwesenheit eines Co-Faktors abhängig, der im Plasma vorhanden ist (11). Ohne diesen Co-Faktor ist Heparin wirkungslos. Heparin vermag infolge seines hohen Schwefelsäuregehaltes die elektrische Ladung von Prothrombin und Thrombokinasen zu verändern und damit ihre Aktivität zu beeinflussen. Mit steigendem Schwefelgehalt nimmt die gerinnungshemmende Wirkung des Heparins zu und gewöhnliche Polysaccharide können durch Einführen von Schwefelsäuregruppen zu Antikoagulantien gemacht werden. Protamin hebt die Heparinwirkung in vivo und in vitro sofort auf. Seine elektrische Ladung neutralisiert die negative Ladung des Heparins. Heparin neutralisiert das Thrombin, noch ehe es mit dem Fibrinogen in Reaktion treten kann.

Heparin und Blutzucker:

Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Heparin und Blutzucker führten bis heute zu sehr widersprechenden Ergebnissen.

So fanden Bond und Spitzer (4) bei Versuchen an 15 Kaninchen nach wiederholten i. v. Heparininjektionen von je 2 mg bzw. 0,6 mg den Blutzuckerspiegel gegenüber Kontrolltieren signifikant erhöht. Das Maximum der Erhöhung von 40 % trat 45 Min. nach der Injektion ein. Eine durch Injektion von 0,075 mg

Adrenalin, ebenso eine durch Applikation von 1 mg Glukagon entstandene Hyperglykämie wurde durch Heparin nicht beeinflusst. Andererseits wurde die Entstehung einer Hypoglykämie nach 4 E Insulin durch vorhergehende Gabe von Heparin verhindert. Die Verfasser deuten die Ergebnisse in dem Sinn, daß die Wirkung von Heparin auf den Kohlenhydratstoffwechsel auf einer Adrenalinfreisetzung beruhe.

Wenke und Wekeová (49) beobachteten dagegen bei ähnlichen Versuchen an Kaninchen eine deutliche Hypoglykämie von etwa 21 mg%, wenn sie das Blut 1 Stunde nach der Heparininjektion von 100 E/kg i. v. entnahmen. Blutzuckerbestimmungen 15 u 30 Min. nach der Injektion ergeben allerdings keine statistisch gesicherten Unterschiede gegenüber den Kontrollen.

Auch Versuche an Menschen erzielten keine einheitlichen Ergebnisse.

Lusztig und Mitarbeiter (29) stellten bei 10 Männern zwischen 25-50 Jahren nach i. v. Injektion von 5 ml Heparin eine das normale Schwanken der Kontrollgruppe 3-fach übersteigende Steigerung des Blutzuckerniveaus fest. Das Maximum der Erhöhung wurde 2 - 6, in der Regel 4 Stunden nach der Heparin-gabe erreicht, normalisierte sich aber binnen 12 Stunden. Von 10 Personen war die Steigerung bei 8 Männern über 15 mg%. Histologische Untersuchungen an Kaninchen zeigten als Folge des eingespritzten Heparins (6 mg/kg/KG) einen Glykogenverlust der Leber.

Nach Weissbecker und Hitzelberger (48) vermindert das Heparin das Blutzuckerniveau des Menschen. 10 Versuchspersonen erhielten 150 IE Heparin (Liquemin) intravenös und nach 2 Stunden nochmals 50 IE. Der Blutzucker fiel nach 2 Stunden um 40 % ab, nach 3 Stunden waren die Werte wieder normal. Dies widerspricht den Untersuchungen von Lusztig nicht unbedingt, da diese die Erhöhung des Blutzuckerspiegels erst 2 - 6 Stunden nach der Heparin-gabe beobachteten.

San und Sen (40) injizierten 15 Kaninchen 1 ml/kg Körpergewicht einer 50%igen Glukoselösung i. v. und bestimmten 30, 60 und 120 Min. später die Gerinnungszeit (?), das Prothrombin, die Plättchenzahl, das Fibrinogen und das ionisierte und das gesamte Kalzium. Fibrinogen und Plättchenzahl wurden nicht verändert. Dagegen nimmt in der 1. Stunde die Gerinnungszeit ab (von 66 auf 55 sec ! ?), während das Gesamt-Ca und das ionisierte Ca ansteigen. Bereits in der 2. Stunde war die Gerinnungszeit wieder normalisiert.

Nach den Untersuchungen von Tilden und Shipley (44) wird dagegen die gerinnungszeitverkürzende Wirkung von fettreicher Kost durch gleichzeitige Zuckergaben vermindert.

Nach Garrett (13) besteht im Insulinkoma eine verminderte Heparintoleranz.

Morrice, Drake und Goodrich (30) fanden unter Verwendung des Protamintitrationsverfahrens nach i. v. Glukosebelastung einen Anstieg des Blutzuckers, der von einem parallelen Ansteigen des Protamintiters begleitet war. Die Gerinnungszeiten waren verlängert. Auch nach Insulinbelastung erfuhr der endogene Heparin Gehalt des Blutes parallel zum Blutzucker eine Änderung. Hier fällt der Protamintiter zunächst unter den normalen Spiegel, um dann langsam wieder anzusteigen.

Cazzola und Pradelli (7) beobachteten nach einer intraarteriellen Verabreichung von 40 E Insulin bei Gesunden und Gefäßkranken eine Erhöhung der Heparinaktivität im Plasma. Bei Diabetikern reichte diese Dosierung nicht aus, um die gleiche Heparinaktivität zu erzielen. Eine höhere Dosis war erforderlich.

Zusammengefaßt ergibt sich folgende Widersprüchlichkeit der Befunde:

I. v. Injektion von Heparin führte einerseits zur Erhöhung, andererseits zum Absinken des Blutzuckerspiegels.

Glukosegabe bewirkte eine Verkürzung, in anderen Fällen aber auch eine Verlängerung der Blutgerinnungszeit, ebenso teils eine Erhöhung, teils eine Erniedrigung der Heparinaktivität des Blutes.

Alle diese Beobachtungen sprechen dafür, daß zwischen Kohlenhydratstoffwechsel und Blutgerinnung enge, aber noch nicht geklärte Beziehungen bestehen.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Heparintoleranztest in vitro

Auf Grund der erhöht gefundenen Heparintoleranz des Arteriosklerotikers prüften wir auch das Blut des Diabetikers in dieser Hinsicht, um eventuell auf diese Weise eine Beziehung des Diabetes zur Blutgerinnung und damit zur Arteriosklerose aufzudecken.

Unter Heparintoleranz versteht man ganz allgemein das Ausmaß der Verlängerung der mit einer bestimmten Methode ermittelten Gerinnungszeit nach i. v. Heparininjektion oder Zusatz von Heparin in vitro zur Blutprobe. (Der in-vitro-Heparintoleranztest wird jetzt auch als sog. Heparinzeit bezeichnet.) Entsprechend einer auf den Ausgangswert bezogenen geringen oder erheblichen Gerinnungszeitverlängerung gegenüber der Norm spricht man von erhöhter bzw. verminderter Heparintoleranz.

Reagenzien:

1. Test-Thrombin Trockensubstanz 60 NJH (Behringwerke)
2. Reagens für Heparintoleranztest 10 IE/ml (Biochemicum "Roche")
3. Diäthylbarbitursäure Pufferlösung pH 7,6 und 6,7 (Behringwerke)
4. SNP = Standard-Normalplasma als Trockensubstanz (Dade, USA)
5. Aqua bidest Ampullen
6. Citratlösung 3,8 %

Wir setzen die Testlösung folgendermaßen an:

1. Durch vollständiges Auflösen der Heparintrockensubstanz in 5 ml Aqua bidest wurde eine Heparin-Stammlösung von 10 IE/ml hergestellt. Davon pipettierten wir 1 ml ab und verdünnten diesen mit 9 ml Pufferlösung. So entstand eine Lösung von 1 IE/ml, von der wir einmal 2 und einmal 3 ml jeweils in ein Reagenzglas entnahmen, um sie dann mit 8 bzw. 7 ml Pufferlösung gut durchzumischen. Die so entstandenen Verdünnungen enthielten 0,2 bzw. 0,3 IE/ml und kamen so zur Verwendung.
2. 1 Ampulle der Test-Thrombin-Trockensubstanz wurde in 10 ml Aqua bidest, zur Lösung gebracht und nach 30 Min. verwendet. Die zur Verwendung gelangte Thrombinlösung enthielt damit 6 NJH/ml.
3. Das Standard-Normalplasma wurde in 1 ml Aqua bidest. gelöst.
4. Die beiden erwähnten Pufferlösungen kamen im Mischungsverhältnis 1 : 1 zur Anwendung.

Verwendete Methode:

Zuckerkranken, Patienten mit obliterierender Arteriopathie und gesunden Vergleichspersonen wurden jeweils 20 ml Citratblut 1 : 10 entnommen und von diesem Blut jeweils 0,2 ml in ein Reagenzgläschen gefüllt. Jedes Gläschen wurde im Wasserbad zunächst 1 min lang bei 37° vorgewärmt, bevor weitere Substanzen zugesetzt wurden.

1. Zur Bestimmung der Null- bzw. Ausgangswerte wurden zunächst 0,2 ml Pufferlösung und nach gutem Durchmischen und 1 min Wartezeit 0,1 ml Thrombinlösung (= 0,6 NIH - Einheiten) der Blutprobe zugegeben. Unter gleichmäßigem Umrühren mit einer Platinöse wurde die Zeit vom Augenblick der Thrombinzugabe bis zum Auftreten der ersten Fibrinfäden abgestoppt.

Weiterhin wurden folgende Ansätze gemacht, wobei die Pufferlösung zur konstanten Volumenauffüllung auf 0,5 ml diente:

2. 0,2 ml Citratblut
0,1 ml Pufferlösung
0,1 ml Heparinlösung von 0,2 IE/ml
0,1 ml Thrombinlösung
3. 0,2 ml Citratblut
0,1 ml Pufferlösung
0,1 ml Heparinlösung von 0,3 IE/ml
0,1 ml Thrombinlösung

Die verschiedenen Substanzen wurden in der angegebenen Reihenfolge der Blutprobe zugegeben; die Zugabe erfolgte jeweils bei guter Durchmischung im Zeitabstand von 60 sec.

ERGEBNISSE

Es wurden untersucht: 82 Diabetiker ohne nachweisbare Gefäßkomplikationen, davon 40 Männer und 42 Frauen, und diesen 57 gesunde Vergleichspersonen gegenübergestellt.

Außerdem sind noch zusätzlich 15 Patienten mit obliterierender Angiopathie zum Vergleich aufgeführt.

Die in den folgenden Abbildungen auf der Ordinate dargestellten Thrombinzeitwerte beziehen sich auf den jeweiligen Probanden-Null-Wert, d. h. den Thrombinzeitwert des Ansatzes ohne Heparinzugabe (Ansatz 1 auf Seite 19), den wir als 100 % festsetzten. Der Probandenwert wurde aus mindestens 4 Einzelbestimmungen ermittelt; die Ergebnisse der verschiedenen Personenkollektive wurden zusammengefaßt und als Gesamtmittelwert dargestellt.

Mit Hilfe der Methode konnten recht exakte Werte erzielt bzw. Aussagen gemacht werden, da die Streuung dieser Werte im Mittel 3,3 % nicht überschreitet (errechnet an 200 VP).

Zugabe von 0,03 IE Heparin pro Ansatz ergab deutlichere Unterschiede zwischen den untersuchten Probanden als die von 0,02 IE.

Abb. 1 zeigt die Thrombinzeitmittelwerte sämtlicher Diabetiker und Nichtdiabetiker, getrennt in Männer und Frauen und in die Altersklassen unter 40 und über 40 Jahren, nach Zugabe von 0,03 IE Heparin/0,5 ml Testansatz in vitro. Auffallend ist der große Unterschied der Werte der Altersstufen unter 40 Jahren gegenüber den älteren Probanden. Es zeigt sich hierbei eine eindeutig stärkere

Verlängerung der Thrombinzeit der jüngeren Untersuchungspersonen, die bei Männern und Frauen, Diabetikern und Nichtdiabetikern in gleicher Weise erkennbar ist. Es mußte ein sehr kleiner Parameter gewählt werden, um die große Streuung bei den jüngeren Versuchspersonen darstellen zu können. Die starke Verlängerung der Thrombinzeit bis über 5 min (= 700 - 900 % Verlängerung), die sich in der unteren Altersstufe recht häufig fand, trat bei den Personen über 40 Jahren in keinem Fall ein.

Die Abbildung zeigt weiterhin, daß in allen angeführten Gruppen die Werte der Diabetiker etwas niedriger liegen als die der Nichtdiabetiker, wobei die Differenz bei den jüngeren Probanden etwas größer ist. Die Werte der Frauen liegen bei den Personen unter 40 Jahren bei Diabetikern und Nichtdiabetikern niedriger als die der Männer, bei der Altersklasse über 40 Jahren zeigt sich zwischen Männern und Frauen kein Unterschied.

Wir haben grundsätzlich in der vorliegenden Versuchsanordnung nur Thrombinzeitwerte unter 5 min exakt gemessen, während solche darüber mit $> 5'$ deklariert wurden. Mathematisch sind daher die aufgeführten Werte über 5 min nicht fixierbar, da diese z. B. 5 1/2 oder wesentlich mehr darstellen können. Deshalb wurde in den nächsten Abbildungen auf diese hohen Werte verzichtet.

So bringt Abb. 1 a nochmals dieselbe altersmäßige Aufteilung wie Abb. 1 nach Eliminierung der Extremwerte über 5 min. Es konnte nun auch ein anderer Parameter gewählt werden. Auch hierbei zeigt sich in allen Untersuchungsgruppen eine wesentlich stärkere Verlängerung der Thrombinzeit der Altersstufe unter 40 Jahren. Mit Ausnahme der weiblichen Diabetiker unter 40 liegen wieder die Werte der Diabetiker niedriger als die der Nichtdiabetiker.

Abb. 2 zeigt einen Vergleich sämtlicher Untersuchungsgruppen ohne altersmäßige Aufteilung. Dabei stellt die 1. Säule jeweils das Ergebnis nach Zugabe von 0,02 IE Heparin/0,5 ml Testansatz, die 2. nach Zusatz von 0,03 IE Heparin/0,5 ml Testansatz dar. Es wurden sämtliche Einzelwerte mit dargestellt. Bei mehreren gleichen Einzelwerten wurden diese der besseren Übersichtlichkeit wegen mit Punkten bezeichnet. Nach Zugabe von 0,03 IE Heparin zeigen wiederum sowohl bei den Männern als auch bei den Frauen die Nichtdiabetiker eine größere Ansprechbarkeit auf Heparin als die Diabetiker, die Werte der Frauen liegen jeweils etwas niedriger als die der Männer.

Nach Zugabe von 0,02 IE Heparin haben die Nichtdiabetiker etwas höhere Werte als die männlichen Diabetiker, bei den Frauen ergibt sich kein Unterschied.

Abb. 3 bringt in derselben Darstellungsweise wie Abb. 1 die Ergebnisse sämtlicher Probanden über 50 Jahre, wobei bei den Männern noch zusätzlich Patienten

mit obliterierender Arteriopathie ohne Diabetes verglichen wurden. Die Obli-
terierten mit einem Durchschnittsalter von 58,6 Jahren zeigten gegenüber den
ihnen entsprechenden Altersklassen aller Untersuchungsgruppen eindeutig die
höchste Heparintoleranz, die bei Zugabe von 0,02 IE Heparin nicht mehr nach-
weisbar ist. Auch hier liegen bei Zugabe von 0,03 IE Heparin die Werte der
männlichen Nichtdiabetiker höher als die der Diabetiker, während dieser Un-
terschied bei den Frauen nicht vorhanden ist.

Zusammenfassend zeigen die Patienten mit peripheren Gefäßobliterationen die
geringste, die Nichtdiabetiker die höchste Verlängerung der Thrombinzeit
nach Heparinzusatz.

In Abb. 4 sind nur die Ergebnisse nach Zugabe von 0,03 IE Heparin/0,5 ml
Testansatz dargestellt. Wieder wurden alle Untersuchungsgruppen verglichen,
diesmal aber in 3 Altersklassen aufgeteilt. Trotz der Eliminierung der hohen
Werte über 5 min zeigt sich in allen Gruppen ein großer Altersunterschied der
Altersgruppen unter 40 gegenüber den älteren Versuchspersonen. Die jüngeren
Probanden sprechen auf Heparin am stärksten an.

Bei den Männern haben in allen Gruppen die Nichtdiabetiker die höchsten, die
zum Vergleich angeführten Patienten mit obliterierender Angiopathie ohne
Diabetes die niedrigsten Werte. Bei den Frauen zeigen aber in den Altersstu-
fen unter 40 Jahren die Diabetiker eine stärkere Verlängerung der Thrombin-
zeit als die Nichtdiabetiker, bei der Altersklasse zwischen 40 und 60 ist es
wieder umgekehrt und bei den Probanden über 60 ergeben sich keine Unter-
schiede.

Außerdem nimmt bei den weiblichen Versuchspersonen mit zunehmendem Al-
ter die Ansprechbarkeit auf Heparin ab, die Heparintoleranz wird also mit
steigendem Alter erhöht. Dieser Abfall der Werte mit zunehmendem Alter
läßt sich allerdings bei den männlichen Probanden nicht kontinuierlich nach-
weisen.

Abb. 5 bringt einen Vergleich der Thrombinzeitmittelwerte der Diabetiker
nach Zugabe von 0,03 IE Heparin hinsichtlich ihres Blutzuckergehaltes, der
am Tage der Versuche bestimmt wurde. Die Gesamtzahl der hier angeführten
Diabetiker ist geringer, da nicht von sämtlichen Personen am selben Tag eine
Blutzuckerbestimmung vorgenommen wurde.

Es ergibt sich dabei ein angedeuteter Trend hinsichtlich geringerer Ansprech-
barkeit auf Heparin bei Patienten mit höheren Blutzuckerwerten, der jedoch
nicht kontinuierlich zu beobachten und im Ausmaß nicht zu signifizieren ist.

Wie Abb. 6 zeigt, ergibt eine Einteilung nach dem Schweregrad des Diabetes, die wir nach der angewandten Therapie (Insulin, Tabletten, Diät) trafen, nur bei den weiblichen Personen, die mit Diät einstellbar sind, einen deutlicheren Unterschied in Richtung der Verlängerung der Thrombinzeit. Die geringe Fallzahl (besonders bei den mit Diät einstellbaren Diabetikern) erlaubt jedoch keine weitergehenden Schlußfolgerungen.

Die Frage der Beeinflussung der Heparintoleranz durch erhöhten Glukosegehalt des Blutes sollte nun noch experimentell bei stoffwechselgesunden Personen geprüft werden. Dazu wurden 16 gesunden, normoglykämischen Probanden 40 ml einer 40%igen Glukoselösung injiziert. Anschließend wurde 5 min und 30 min nach dieser Glukoseinjektion Citratblut entnommen und damit die Heparintoleranz durch Zugabe von 0,02 IE Heparin zur Blutprobe überprüft.

Tabelle 1

Heparintoleranztest nach i. v. Glukose-Applikation

vor der Injektion:			5' nach der Injektion:			30' nach der Injektion		
0 - Wert	+ Hep. 0,02		0 - Wert	+ Hep. 0,02		0 - Wert	+ Hep. 0,02	
30 "	43,5 "	(145%)	32 "	(107%)	46 "	31 "	(103%)	51 "
32 "	47 "	(147%)	34 "	(106%)	49 "	33 "	(103%)	49 "
33 "	45 "	(136%)	33 "	(100%)	44 "	33 "	(100%)	44 "
34 "	43 "	(126%)	34 "	(100%)	46 "	33 "	(97%)	48 "
32 "	46 "	(144%)	32 "	(100%)	46 "	32 "	(100%)	47 "
33 "	43 "	(130%)	32 "	(97%)	44 "	32 "	(97%)	44 "
36 "	53 "	(147%)	37,5 "	(104%)	57 "			
35 "	50 "	(143%)	36 "	(103%)	50 "	37 "	(106%)	49 "
38 "	54 "	(142%)	39 "	(103%)	56 "	39 "	(103%)	58 "
36 "	48 "	(133%)	34 "	(94%)	48 "	36 "	(100%)	47 "
34 "	54 "	(159%)	34 "	(100%)	54 "	34 "	(100%)	53 "
32 "	38 "	(119%)	32 "	(103%)	42 "	31 "	(97%)	40 "
34 "	45 "	(132%)	34 "	(100%)	45 "	33 "	(97%)	45 "
35 "	42 "	(120%)	35 "	(100%)	44 "	34 "	(97%)	43 "
32 "	41 "	(128%)	32 "	(100%)	42 "	32 "	(100%)	43 "
36 "	53 "	(147%)	36 "	(100%)	53 "	35 "	(97%)	53 "

Die Tabelle zeigt sämtliche ermittelten Probandenwerte, die sich wieder aus mindestens 4 Einzelwerten zusammensetzen. Die in Klammern aufgeführten Prozentzahlen beziehen sich wieder auf den jeweiligen Probanden-Nullwert, also den Thrombinzeitwert des Ansatzes ohne Heparinzugabe vor der Injektion, der als 100 % festgesetzt wurde. Die 5 min und 30 min nach der Injektion bestimmten Thrombinzeitwerte änderten sich kaum gegenüber denjenigen, die vor der Glukoseinjektion erhalten wurden. In einigen Fällen trat eine geringfügige Verlängerung der Thrombinzeitwerte ein, jedoch konnte kein einheitlicher Trend festgestellt werden.

In einer weiteren Versuchsanordnung wurde geprüft, ob umgekehrt eine i. v. Applikation von Heparin den Blutzuckerspiegel bei normoglykämischen Probanden beeinflussen kann. 4 Personen wurden jeweils 10 000 IE Liquemin injiziert und der Blutzuckerspiegel über einen Zeitraum von 180 min kontrolliert. In Abb. 7 sind die Ergebnisse dargestellt. Der Mittelwertskurvenverlauf zeigt keine über die bekannten Blutzuckerspiegelschwankungen hinausgehenden Abweichungen. Die bei 45 min erkennbare Zacke nach oben ist nur durch einen extrem hohen Blutzuckerwert (Fehlmesung ?) bedingt. Hierdurch scheint bewiesen, daß in dem angegebenen Beobachtungszeitraum Heparin keinen meßbaren Einfluß auf den Blutzuckerspiegel hat.

Abb. 8 zeigt das Ergebnis eines weiteren in vivo-Versuches, der an 3 Versuchspersonen vorgenommen wurde. An einem Versuchstag wurde bei den 3 Versuchspersonen nüchtern die Glukosetoleranz nach i. v. Injektion von 40 ml einer 50%igen Glukoselösung über einen Zeitraum von 55 min in 10-minütigem Abstand kontrolliert; am darauffolgenden Tag wurde denselben Versuchspersonen 10 min vor der nochmaligen gleichen Glukosetoleranzprüfung 10 000 IE Heparin i. v. vorgespritzt.

Der Nüchtern-Blutzuckergehalt vor der Injektion wurde als 100 % festgelegt; die in den Kurven dargestellten Werte beziehen sich auf diesen Ausgangswert. Die beiden Versuchstage wurden in Abb. 8 zusammen dargestellt. Die gestrichelte Linie bringt dabei die Mittelwerte der Ergebnisse des 1. Tages, also nach Injektion von 40 ml einer 50%igen Glukoselösung, die ausgezogene Linie die des 2. Tages, also nach Injektion von Heparin und Glukoselösung.

Interessanterweise liegen die am 2. Versuchstag ermittelten Glukosetoleranzwerte nach Heparinbelastung mit Ausnahme des unmittelbar nach der Injektion bestimmten Wertes generell höher. Dies könnte so interpretiert werden, daß das vorgespritzte Heparin einen, wenn auch geringen Einfluß auf die Abbaquote der zugeführten Glukose hat, und zwar im Sinne einer Verzögerung. Dieser informative Versuch läßt jedoch wegen der geringen Fallzahl keine eindeutige Interpretation zu.

Abb. 1

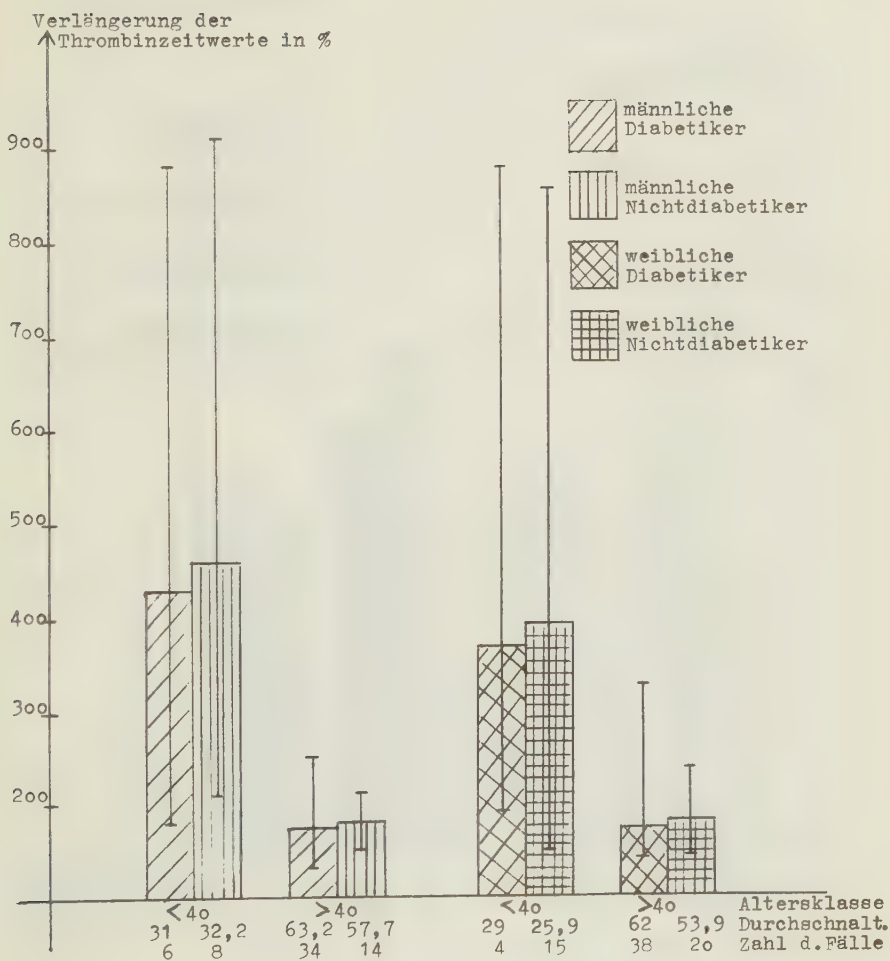


Abb. 1 a

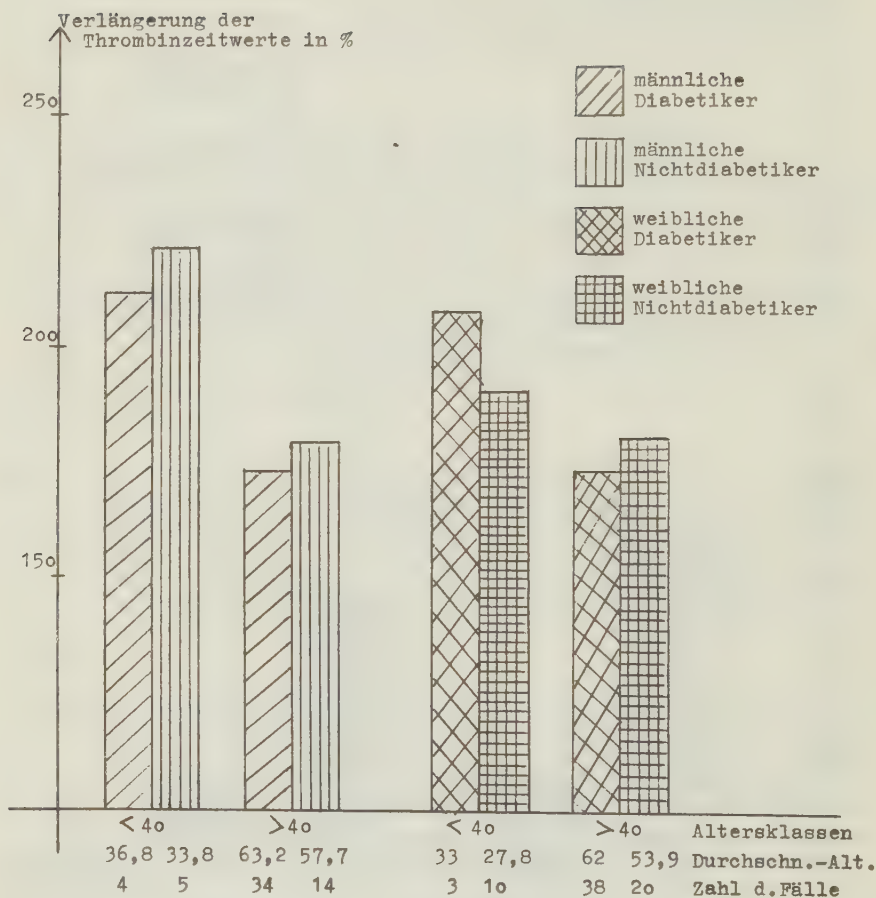


Abb. 2

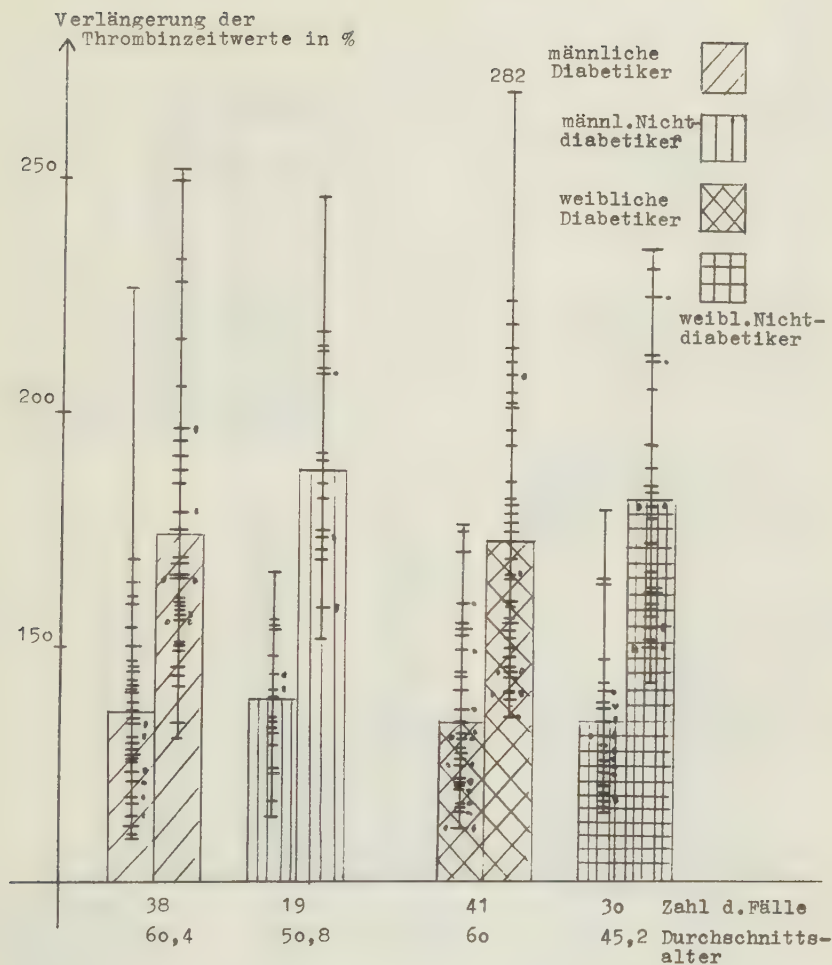


Abb. 3

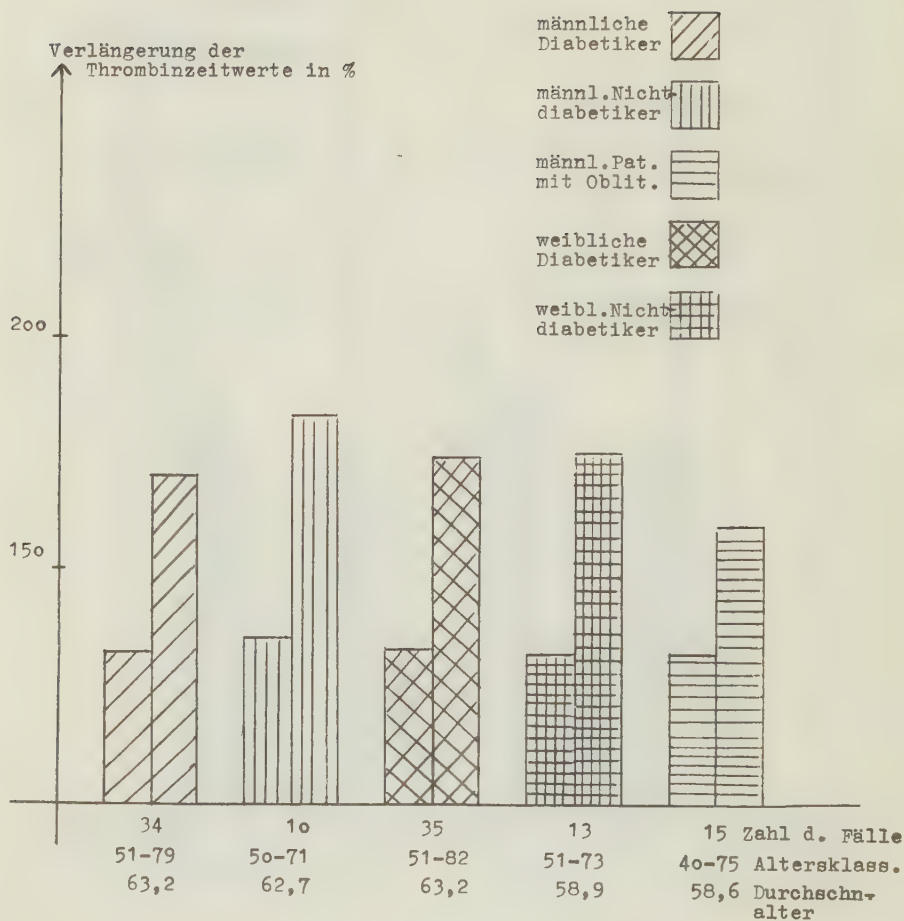


Abb. 4

Verlängerung der
Thrombinzeitwerte in %

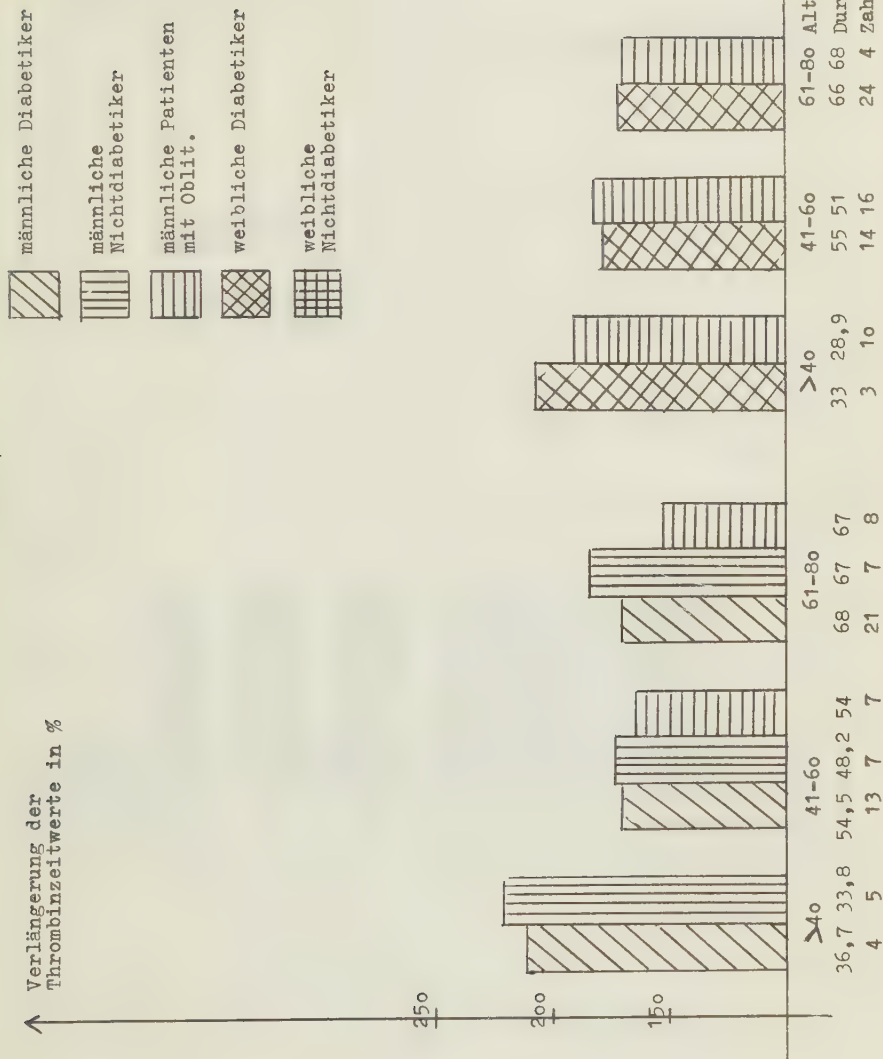


Abb. 5

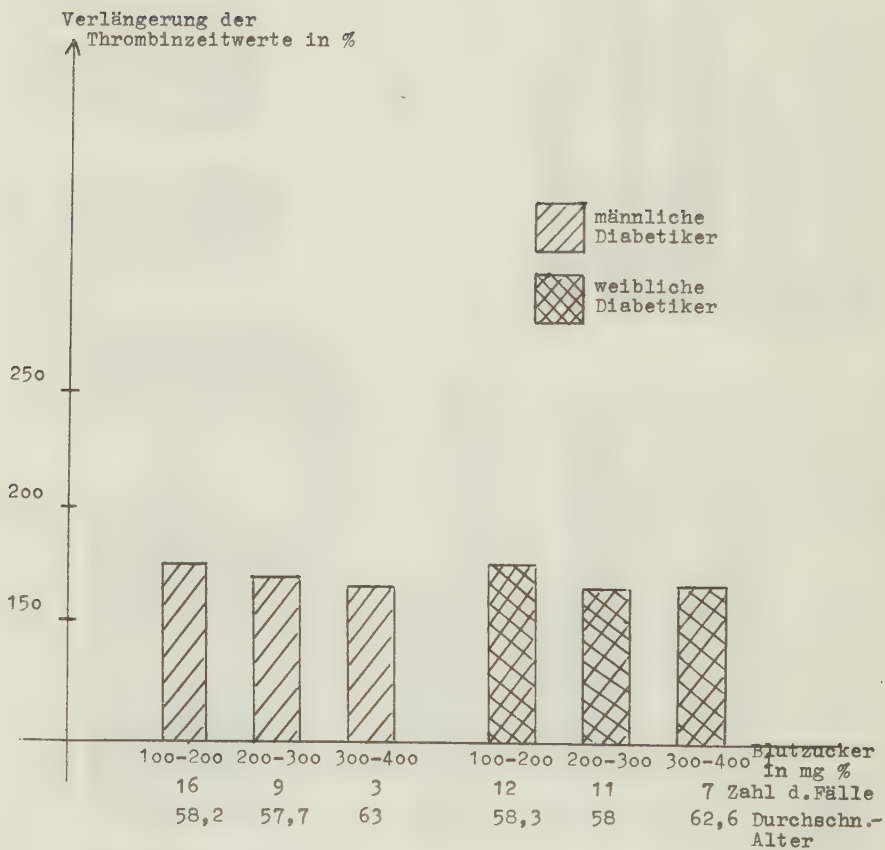


Abb. 6

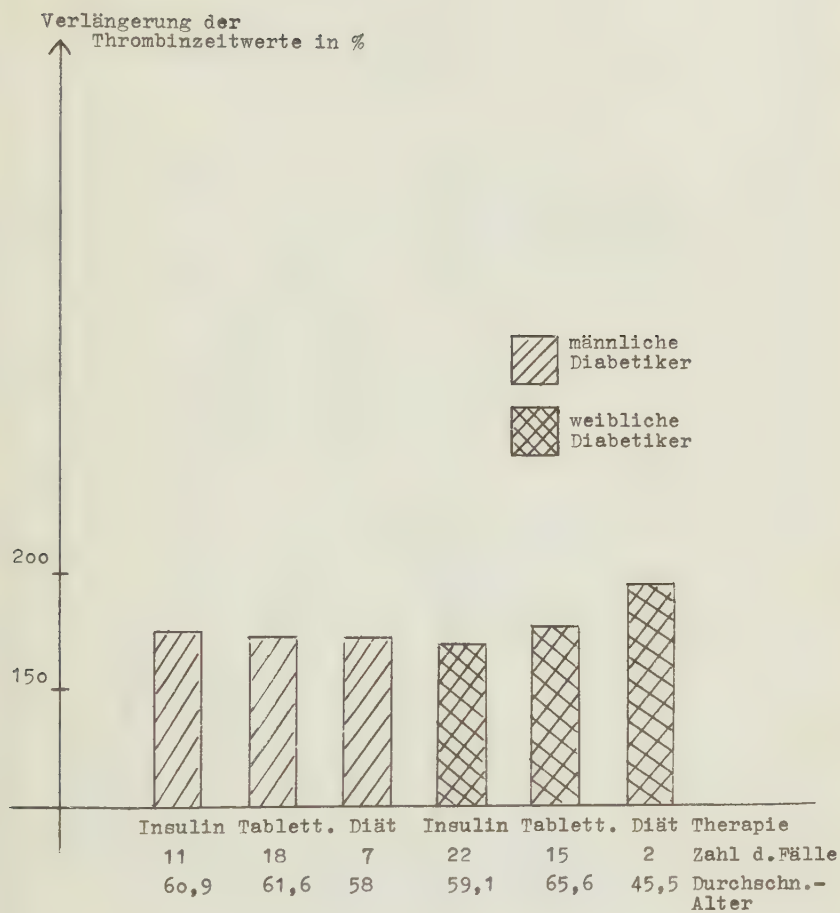


Abb. 7

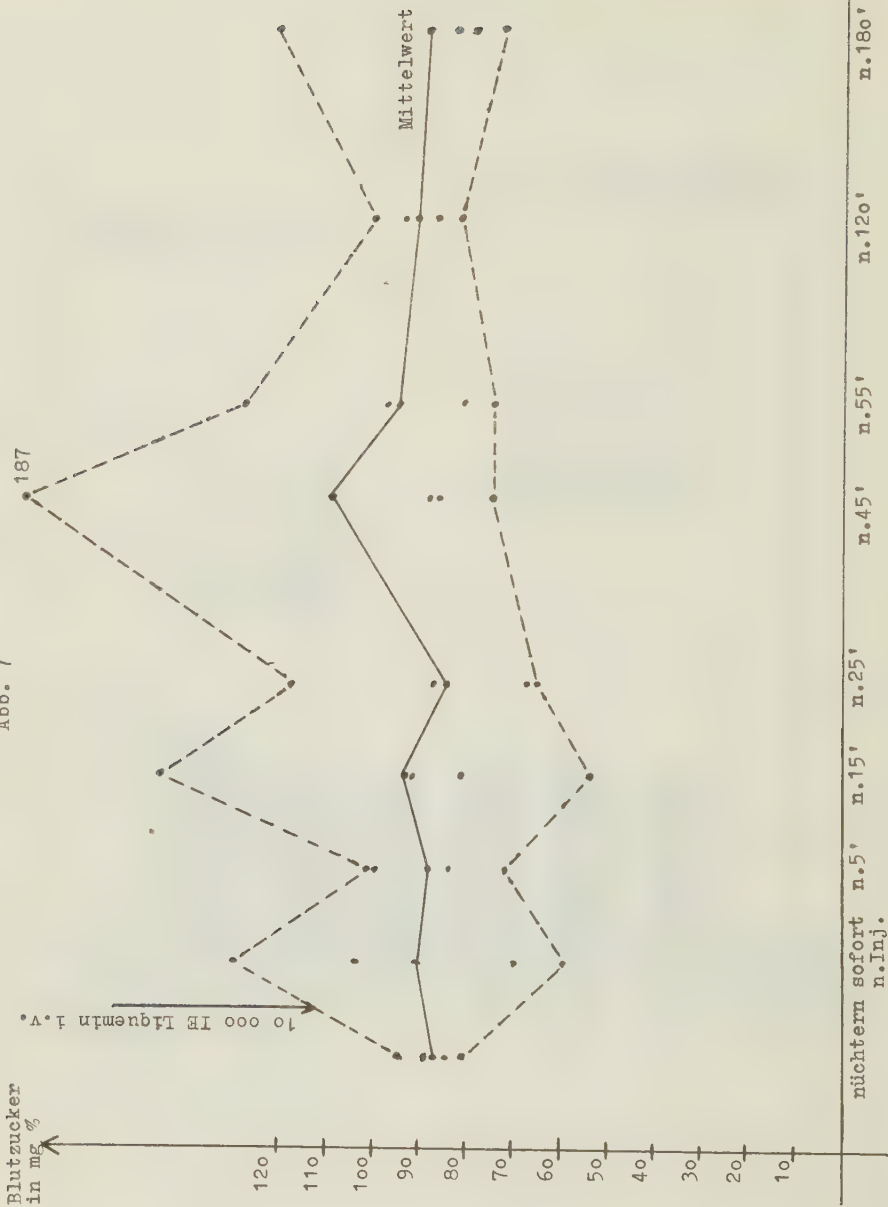
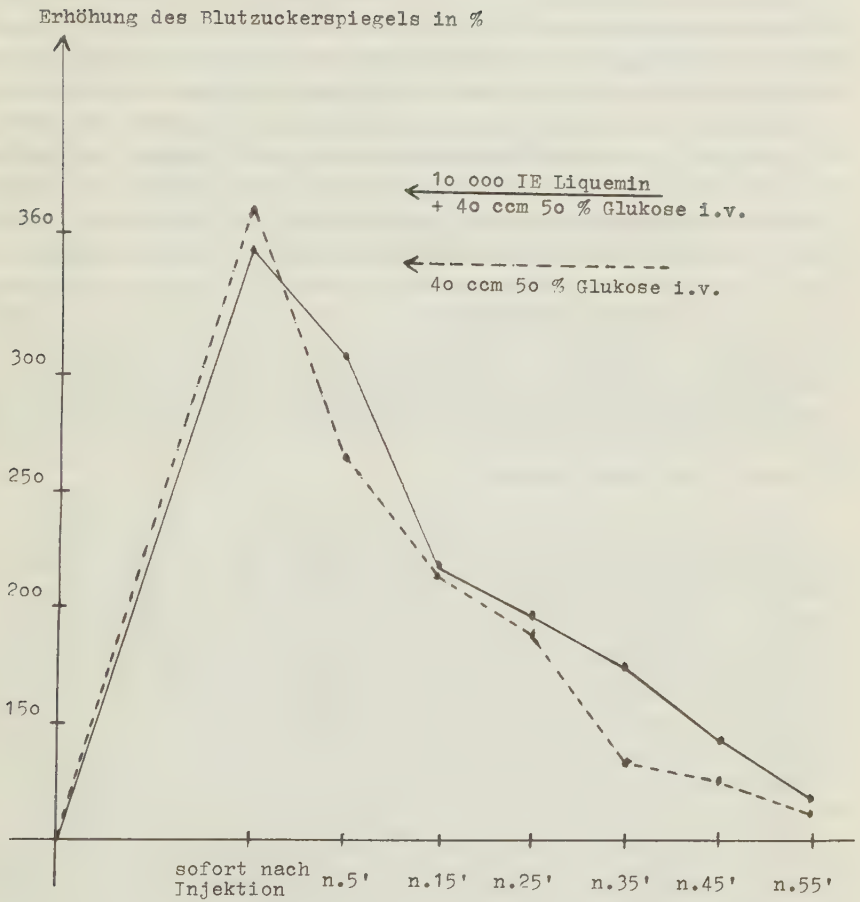


Abb. 8



DISKUSSION

Mit Hilfe der Heparintoleranz kann man latente Hyper- und Hypokoagulämien aufdecken. Je nach Reaktionstyp bekommt man als Ergebnis eine erhöhte oder verminderte Heparintoleranz. In allen Untersuchungsgruppen fanden wir die stärksten Verlängerungen der Thrombinzeit nach Heparinbelastung bei den jüngeren Probanden, gleichsinnig bei Diabetikern und Nichtdiabetikern, Männern und Frauen. Dabei hatten wir den Eindruck eines deutlichen "Knickes" bei Leuten unter 40 und über 40 Jahren. Eine Verlängerung der Thrombinzeit über 5 min, die sich bei jüngeren Versuchspersonen öfter ergab, trat in den Altersklassen über 40 Jahren in keinem Fall ein. Es besteht somit offenbar eine direkte Relation zwischen Heparintoleranz und Lebensalter. Als primäre Erklärungsmöglichkeit kann eine mit zunehmendem Alter eintretende Verminderung der im Blut vorhandenen Heparine bzw. strukturverwandten heparinoiden Substanzen angenommen werden. Dafür spräche auch die Beobachtung einer zahlenmäßigen Abhängigkeit der Mastzellen vom Lebensalter, nach der mit zunehmendem Alter eine stetige Abnahme der Heparinocyten erfolgt. Eine andere Erklärungsmöglichkeit wäre ein bei zunehmendem Lebensalter vermehrtes Auftreten von Inhibitoren gegen das zugeführte Heparin. Dies konnte aber in der vorliegenden Arbeit nicht geklärt werden.

In unseren Versuchen konnten wir die bei obliterierender Arteriopathie gefundene Erhöhung der Heparintoleranz (46) bestätigen. Die Versuchspersonen mit obliterierenden Gefäßleiden ohne Diabetes zeigten trotz der kleinen Zahl jeweils, bis auf eine Ausnahme, die geringste Gerinnungszeitverlängerung auf das zugeführte Heparin, obwohl diese Gruppe nicht homogen ist, d. h. Fälle umfaßt, die stärker und geringer ausgeprägte Gefäßverschlüsse aufwiesen. Die Ursachen dieser erhöhten Heparintoleranz sind nicht bekannt, aber, wie schon an anderer Stelle ausführlich erwähnt (S. 6/7), liegt evtl. eine definitive Verminderung des endogenen Heparins im Blut vor, die dann über Änderungen im Blutgerinnungsprozeß bei der Entstehung der Arteriosklerose eine Rolle spielt. Für das Vorliegen eines Heparindefizits sprechen dabei folgende Beobachtungen: Der Klärungseffekt lipämischer Seren durch Heparin ist bei Arteriosklerotikern wesentlich geringer als bei Gesunden. Bei fortgeschrittener Atheromatose sind die Mastzellen in der Wand großer Gefäße vermindert oder gar nicht mehr nachweisbar. Bei manifester Arteriosklerose sind auch die Aktivitäten einiger Teilfaktoren des thromboplastischen Vorganges gesteigert, was ebenfalls für das Fehlen einer regulierenden Heparininhibition spricht.

Eine Gegenüberstellung von gesunden Vergleichspersonen mit Diabetikern ergab in den meisten Fällen eine erhöhte Heparintoleranz bei den Diabetikern. Diese Verkürzung der Thrombinzeit nach Heparinzugabe in vitro ist jedoch nicht signifikant und erreicht bei weitem nicht das Ausmaß der Verkürzung bei Patienten mit obliterierender Arteriopathie. Sie wird nur nach Zugabe von 0,03 IE Heparin/Ansatz deutlich und zeigt bei zwar gleichmäßigem Gesamttrend größere Unterschiede zwischen den einzelnen Diabetikern. Somit ist die Gruppe der Diabetiker ohne Gefäßkomplikationen hinsichtlich der Ergebnisse ihrer Heparintoleranz wesentlich inhomogener als die Gruppe der Arteriopathien ohne Diabetes. Es soll noch einmal betont werden, daß die untersuchten Diabetiker keine nachweisbaren Gefäßkomplikationen aufwiesen. Dies war für die vorliegende Arbeit besonders wichtig, da nur die diabetische Stoffwechselentgleisung per se hinsichtlich ihrer Heparintoleranz überprüft werden sollte. Als Vergleichsgruppe diente dann zweckmäßigerweise außer den gesunden Vergleichspersonen eben die Gruppe mit angiographisch gesicherten arteriosklerotischen Gefäßkomplikationen.

Es bleibt nun die Frage offen, ob die auch beim Diabetiker, wenn auch in geringerem Ausmaß gefundene erhöhte Heparintoleranz den gleichen Grundmechanismus beinhaltet wie die erhöhte Heparintoleranz beim Arteriosklerotiker. Entsprechende histologisch-quantitative Mastzellenbestimmungen beim Diabetes sind nicht bekannt geworden.

Da zwischen Diabetes und arteriosklerotischen Gefäßveränderungen so nahe Beziehungen bestehen, wäre es durchaus denkbar, daß die erhöhte Heparintoleranz des Diabetikers trotz der klinisch negativen Gefäßpathologie in latenten Gefäßprozessen, die sich klinisch noch dem Nachweis entziehen, ihren Ursprung hat. Andererseits gibt es aber eine Anzahl recht heterogener Krankheitsbilder, bei denen eine erhöhte Heparintoleranz gefunden wurde, so beim Myocardinfarkt, bei der Pneumonie, beim Rheumatismus u. a. Grundsätzlich muß aber wohl doch als gemeinsame Ursache dieser gleichsinnigen Reaktionen das Vorliegen einer Korrelationsstörung zwischen gerinnungsfördernden und gerinnungshemmenden Faktoren angenommen werden, also eine Störung dieses labilen Gleichgewichts, sei es akut (Pneumonie) oder chronisch. Dabei wäre zu klären, ob die beobachtete erhöhte Heparintoleranz beim Diabetes dadurch zustande kommt, daß der endogene Heparin Gehalt des Blutes beim Zuckerkranken geringer ist als der beim Stoffwechselgesunden oder ob ausschließlich oder zusätzlich noch besondere Hemmechanismen gegen das zugeführte Heparin im Blut vorhanden sind. Dieses Problem konnte im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht gelöst werden. Interessanterweise zeigt die Thrombinzeit (als Indikator von Thrombin-inaktivierenden Substanzen) ohne Heparinzugabe keine

Unterschiede zwischen den 3 Gruppen (Diabetikern, Kranken mit obliterierenden Gefäßleiden und gesunden Vergleichspersonen); erst bei Belastung mit Heparin ergaben sich unterschiedliche Reaktionen. Deshalb muß auch die Möglichkeit des Hemmechanismus in Erwägung gezogen werden.

Eine Beziehung der Heparintoleranz zu dem am jeweiligen Versuchstag bestimmten Blutzuckergehalt der untersuchten Diabetiker konnten wir nicht feststellen. Es bestand der Eindruck einer geringgradigen Verkürzung der Thrombinzeit bei den höheren Blutzuckerwerten, die aber statistisch nicht zu sichern ist. Ebenso zeigt die Einteilung nach dem Schweregrad des Diabetes, die wir nach der angewandten Therapie (Insulin, Tabletten, Diät) trafen, keine verwertbaren Unterschiede.

Die Primärkonzeption der Arbeit, daß die Aktivität des zugeführten Heparins im Blut durch einen primär erhöhten Blutzuckergehalt in vivo bei den Diabetikern beeinflußt werden könnte (in vitro in Modellversuchen nachweisbar, s. Dissert. Lottermoser) ließ sich nicht verifizieren. Die mit den in vitro verwendeten Dosierungen deutlich erkennbaren Beeinflussungen von zugesetzten Heparin- und Glukosemengen scheinen in vivo mit den ungleich geringeren Glukosekonzentrationen nicht reproduzierbar zu sein. Weissbecker und Hitzelberger beobachteten 2 Stunden nach i. v. Injektion von 150 IE Heparin (Liquemin) eine Senkung des Blutzuckerspiegels bei Nichtdiabetikern um 40 %. Obwohl unsere Versuchsanordnung ein Vielfaches der von Weissbecker injizierten Heparinmenge enthält, glauben wir doch den Schluß ziehen zu können, daß Heparin, im Gegensatz zu den Ergebnissen von Weissbecker, den Blutzuckerspiegel bei Nichtdiabetikern nicht über die normale Schwankungsbreite hinaus zu beeinflussen bzw. zu vermindern vermag. Auch die im Gegensatz zu Weissbecker von Lusztig gefundene Erhöhung des Blutzuckerniveaus im Durchschnitt mit 23 mg% nach Heparin-Injektion können wir nicht bestätigen, zumal die Spontanschwankungen des Blutzuckergehaltes, die schon im normalen Tagesablauf nachweisbar sind, nicht unbeträchtlich sind. In der vorliegenden Versuchsanordnung sind die gemessenen Blutzuckerwerte nach Heparin-Injektion sicher nicht als über die normale Schwankungsbreite hinausgehend zu deklarieren.

ZUSAMMENFASSUNG

1. An Hand einer Literaturübersicht wurde über die Gefäßkomplikationen beim Diabetiker berichtet und auf den eventuellen Zusammenhang dieser Gefäßschäden mit Veränderungen im Gerinnungssystem des Blutes hingewiesen. Einige pathogenetische und ätiologische Faktoren der Arteriosklerose wurden besprochen unter besonderer Berücksichtigung der Beziehungen der Arteriosklerose zur Blutgerinnung.
2. Eigenschaften und Wirkungen des Heparins wurden kurz dargelegt und zusätzlich die bisher in der Literatur erschienenen Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Heparin und Glukose und ihre sich zum Teil sehr widersprechenden Ergebnisse zusammengefaßt.
3. In eigenen Untersuchungen wurde die Heparintoleranz in vitro bei Diabetikern (ohne klinisch nachweisbare Obliterationen), Patienten mit arterio- und oszillographisch gesicherten Obliterationen und "gesunden" Vergleichspersonen, d. h. ohne nachweisbaren pathologischen Organbefund, geprüft. Dabei ergab sich:
 - a) Die Obliterierten hatten die höchste, die gesunden Personen die niedrigste Heparintoleranz; die Diabetiker lagen zwischen den beiden Untersuchungsgruppen.
 - b) In allen Untersuchungsgruppen zeigten die jüngeren Probanden eine weit- aus stärkere Ansprechbarkeit auf Heparin als die älteren.
 - c) Eine eindeutige Beziehung der Heparintoleranz zum Blutzuckergehalt und zum Schweregrad des Diabetes konnte nicht festgestellt werden.
4. Eigene in vivo-Versuche ergaben:
 - a) Nach i. v. Glukosebelastung tritt keine Änderung der Heparintoleranz ein.
 - b) I. v. zugeführtes Heparin zeigt keinen meßbaren Einfluß auf den Blutzuckerspiegel.
 - c) Injektion von Heparin und Glukose ergibt einen etwas höheren Blutzuckerspiegel als die alleinige i. v. Verabreichung von Glukose.
5. Diese Ergebnisse wurden diskutiert und mit den Untersuchungen anderer Autoren verglichen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Antonini F.M.: Le modificazioni umorali nell' ateroed arteriosclerosi ed il loro significato. Riv. Gerontol. e Geriatria 7, 5-21 (1958)
2. Aspenström G., Bengtson K.K.:
Atherosclerosis and blood coagulation Nordisk Med. 56,
1319-1322 (1956)
3. Astrup t.: Neuere Aspekte in der Blutgerinnung und der Fibrinolyse
und ihre Beziehungen zur Coronarthrombose und Coronar-
sklerose
Wiener Zschr.inn. Med. 39 (9), 373-86, Sept. 58
4. Bond B.D. and Spitzer J.J.:
Effekt of heparin on the carbonhydrate metabolism of
rabbits
Amer. J. Physiol. 180, 575-579, 1955
5. Büchner F.: Spezielle Pathologie, Urban u. Schwarzenberg, München-
Berlin 1960, S. 71
6. Büchner F.: Chronische Hypertonie als ein Faktor in der Entstehung der
Arteriosklerose Symposium über Arteriosklerose,
Benno Schwabe u. Co., Verlag Basel/Stuttgart S. 127
7. Cazolla R. und Pradelli:
Fol. Cardiol. (Milano) 11, 22 (1952) zit. bei Perlick,
S. 287
8. Ciswicka M., Sznajderman M.:
Il test di chiarificazione all'eparina e il suo valore nella
diagnosi dell' aterosclerosi.
Minerva med. (Torino) 1958, 2603-2606
9. Demanet J.Cl.: Modifications des protéines et des lipoprotéines dans le
diabète. Leur signification pour la pathogénie de l'artério-
sclérose.
Biol. med., N.S., 6, 1545-1551 (1958)
10. Demkowski U.: Vasculäre Komplikationen beim Diabetes mellitus
München Med. Wschr. 102, 945-8 (1960)

11. Deutsch E.: Blutgerinnungsfaktoren (Einzeldarstellungen aus dem Gesamtgebiet der Biochemie)
Franz Deuticke Wien 1955, Bd. I S. 124
12. Duguid J.B.: The pathogenesis of Arterial Narrowing Symp. über Arteriosklerose,
Benno Schwabe u. Co., Verlag Basel/Stuttgart S. 73 (1956)
13. Garrett J.V.: J. clin. Path. 6, 294 (1953)
zit. bei Perlick S. 287
14. Gofman J.W., Jones H.B., Lindgren F.T., Lyon T.P., Elliott H.A., Strisower B.:
Blood Lipids and Human Atherosclerosis
Circ. II, 1950, Nr. L, 161
15. Goossens-Walcher:
Tagung der deutschen Gesellschaft für innere Medizin, 1961
Bergmann Verlag, Diss. Börner 1961
16. Günther W.: Zusammenhänge zwischen Blutgerinnung und Arteriosklerose.
Medizinische No. 44, 1958, 1798-801
17. Hahn P.F.: Abolishment of alimentary lipaemia following injection of heparin. Science 98 (1943)
18. Hess H.: Die obliterierenden Gefäßerkrankungen
Urban u. Schwarzenberg 1959 S. 114
19. Hetényi G.: Fettsucht und Zuckerkrankheit als präsklerotische Krankheiten
Medizinische (Stgt) 27-28, 1082-6 (1958)
20. Heuchel G.: Diabetes mellitus
Med. Klin. 54, 2352-7, 1959
21. Jorpes J.E., Gardell S.:
Heparin. Journal of Biological Chemistry 176, 267 (1948)
22. Jürgens R.: Koronarthrombose und Gerinnung
Verh. dtsh. Ges. Kreislaufforsch. 1955, 77-96
23. Katz L.N., Keys A. und Gofman J.W.:
Circ. Vol. 1, Vol I, 98 (1952)
zit. bei Perlick S. 286

24. Keys A., Buzina R., Grands Fr.:
Effect of meals of different fats on blood coagulation
Circ. 15, 274-79 (1957)
25. Koller F.: Arteriosklerose und Thrombogenese
Symp. über Arteriosklerose S. 81
26. Komerell B., Berger H.D.:
Über die Wirkung der Nahrungsfette auf die Blutgerinnung
und ihre mögliche Bedeutung für die Arteriosklerose
Klin. Wschr. Jg. 36, Heft 17, 795-80 (1958)
27. Lindgren F. T., Gofman J. W.:
The Role of Lipoproteins in Coronary Disease.
Symp. über Arteriosklerose S. 152
28. Lundbaek K.: Das spät-diabetische Syndrom-Angiospastica diabetica
Erg. inn. Med. N.F., 1-75 (1957)
29. Lusztig G., Sibalin E., Lusztig G.:
Die antilipämische und Hyperglykämie verursachende Wirkung des Heparins
Zeitschr. f. d. ges. inn. Med. 1959, 498-503
30. Morrice G., Drake E. H., Goodrich B. E.:
Effect of certain metabolic processes upon the clotting mechanism
J. of Lab. and clin. Med. 1952
31. Mustard J. F.: Blood coagulation in subjects with and without clinical evidence of atherosclerotic vessel disease
Canad. med. Ass. J. 79, 554-558 (1958)
32. Nolte Billaudelle R:
Über das Verhalten einzelner Gerinnungsfaktoren bei obstruierenden Gefäßkrankheiten
Klin. Wschr. 1957 (726-729)
33. O'Brien J. R.: Fat ingestion, blood coagulation and atherosclerosis
Amer. J. Med. Sci. 234, 373-380 (1957)
34. Pescador L., Quteirino J., Martin de Prados B., Sainz V.:
Les valeurs de l'heparine, de la cholestérine et des protéines, plasmatiques dans le processus général de l'athérosclérose.
Acta endocrinol. (Bruxelles) 12, 402-406 (1957)

35. Randerath E. u. Diezel P.B.:
 Vergleichende histochemische Untersuchungen der
 Arteriosklerose bei Diabetes mellitus und ohne Diabetes
 mellitus,
 Deutsches Archiv für klin. Med., Bd. 205, 523-542 (1959)
36. Ratschow M.: Angiologie, Thieme Verlag Stuttgart 1959 S. 286
37. Rokitsky: A Manuel of Path. Anat. London,
 Sydenham Soc., Vol. 4261-272
38. Schaub F.: Atherosklerose und Stoffwechsel
 Dtsch.med.J. 10, 331-6(1960)
39. Schönbach G.: Nervenschädigungen als Ursachen von Permeabilitäts-
 erhöhungen der Gefäßwand und Intimaödem mit nach-
 folgender Arteriosklerose Symp. S. 108
40. Sen S.C. and Sen S.:
 Coagulability of blood after an intravenous injection of
 a concentrated solution of glucose
 Indian J. Med. Res. 43, 423-427 (1955)
41. Studer A.: Vorkommen und Bedeutung des körpereigenen Heparins
 Experientia Vol. X/3 S. 148
42. Szeklik, Janiakowa e Orlowski:
 La correlazione delle alterazione dei lipidi del sangue e
 di alcuni fattori della coagulazione nel corso dell'atero-
 sclerosi nell'uomo
 Minerva med. (Torino) 1958, 2653-58
43. Thurnherr A., Niederberger W.:
 Neuere Auffassungen über Ätiologie und Therapie der
 Atherosklerose unter besonderer Berücksichtigung von He-
 parin
 Schweiz. med. Wschr. 1954, 285-90
44. Tilden J. H., Shipley R.R.:
 Effect of glucose on appearance of plasma-clotting
 accelerator activity, lactescence, and plasma lipids in
 fat-fed dogs
 Circulation Res. 6, 804-809 (1958)

45. Tonelli L., Tagliacozzo S.:
Lineamenti delle arteriopatie croniche obliteranti periferiche,
dallo studio parallelo e comparativo degli aspetti clinici,
del profilo arteriografico ed isto-patologico e delle condizioni
dell'emocoagulabilità
Arch. "De Vecchi" 24, 443-562 (1956)
46. Walcher A., Goossens N., Hess H., Stumpf W.:
Heparintoleranz und Gerinnungsfaktoren bei obliterierender
Arteriopathie
Klin. Wschr. 1960, S. 952
47. Walcher A., Goossens N.:
VIII. Europäischer Hämatologenkongress, Wien 1961, S. Karger
Verlag Basel 1962
48. Weissbecker L., Hitzelberger A.:
Gibt es ein Regulationssystem ACTH-Heparin?
Klin. Wschr. 1953 S. 288
49. Wenke, M., Wenkeova J.:
The influence of heparin on the basal blood sugar in rabbits.
Physiol. bohemoslov. Fremdspr. Ausg. 6, 414-416 (1957)

Herrn Professor Dr. W. SEITZ danke ich ganz besonders für die Festlegung des Themas der vorliegenden Arbeit.

Herrn Dr. med. A. WALCHER bin ich zu verbindlichem Dank verpflichtet für seine Hilfe bei der experimentellen Durchführung der Versuche und Auswertung der Ergebnisse.

LEBENS LAUF

Ich, Gertrud Polednik, wurde am 13.6.1936 als zweites Kind des Pfarrers Karl Polednik in Komotau im Sudetengau geboren. Vom September 1942 an besuchte ich 2 1/2 Jahre die Volksschule in Brüx. 1946 verließen wir die CSR und zogen nach Oberbayern. Dort trat ich dann in die 4. Klasse der Volksschule Benediktbeuern ein und besuchte nach Abschluß dieses Schuljahres die Oberrealschule Bad Tölz. 1951 wechselte ich in die Oberrealschule Marktredwitz über und bestand dort im Juli 1956 die Reifeprüfung. Seit November 1956 studierte ich Medizin an der Universität München, wo ich im September 1962 das Staatsexamen ablegte.

